

PAT-NO: JP406116282A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 06116282 A

TITLE: PINORESINOL GLYCOSIDE, SESAME EXTRACT
CONTAINING THE SAME, METHOD FOR SEPARATING THE SAME SUBSTANCE
AND METHOD FOR PREVENTING OXIDATION OF LIPID USING THE
SAME SUBSTANCE

PUBN-DATE: April 26, 1994

INVENTOR-INFORMATION:

NAME
KAWAGISHI, SHUNRO
OSAWA, TOSHIHIKO
KATSUZAKI, HIROTAKA

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME TAKEMOTO OIL & FAT CO LTD COUNTRY N/A

APPL-NO: JP04289367

APPL-DATE: October 1, 1992

INT-CL (IPC): C07H015/26, C07H001/08, C09K015/06

US-CL-CURRENT: 536/4.1

ABSTRACT:

PURPOSE: To obtain a new pinoresinol glycoside useful as a safe and effective water-soluble natural antioxidant, a sesame extract containing the pinoresinol glycoside, to separate the pinoresinol glycoside from the sesame extract and to prevent oxidation of lipid by using the pinoresinol glycoside and the sesame extract.

CONSTITUTION: A pinoresinol glycoside of the formula. A lignan compound glycoside of a specific structure existing in sesame seed is separated by obtaining an aqueous solution from ground de-fatted sesame seed and further fractionating by using at least liquid chromatography. A method of preventing oxidation of lipid using the pinoresinol glycoside is to add the pinoresinol glycoside to an aqueous medium in which a lipid exists.

COPYRIGHT: (C)1994, JPO&Japio

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-116282

(43)公開日 平成6年(1994)4月26日

(51)Int.Cl.⁵
C 0 7 H 15/26
1/08
C 0 9 K 15/06

識別記号 庁内整理番号

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数7(全5頁)

(21)出願番号	特願平4-289367	(71)出願人	000210654 竹本油脂株式会社 愛知県蒲郡市港町2番5号
(22)出願日	平成4年(1992)10月1日	(72)発明者	川岸 舜朗 愛知県西加茂郡三好町大字三好字八和田70
特許法第30条第1項適用申請有り 平成4年4月2日、 社団法人日本農芸化学会開催の「日本農芸化学会1992年 度大会」において文書をもって発表			(72)発明者 大澤 俊彦 愛知県春日井市押沢台7丁目9番地8
		(72)発明者	勝崎 裕隆 愛知県常滑市小倉町6-94
		(74)代理人	弁理士 入山 宏正

(54)【発明の名称】 ピノレジノール配糖体、これを含有する胡麻抽出物及びこれらの分離方法並びにこれらを用いる
脂質の酸化防止方法

(57)【要約】

【目的】本発明は、安全且つ有効な水溶性の天然抗酸化剤として活用できる、新規のピノレジノール配糖体、これを含有する胡麻抽出物及びこれらの分離方法並びにこれらを用いる脂質の酸化防止方法を提供するものである。

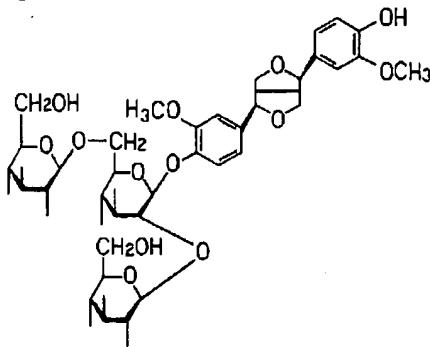
【構成】本発明のピノレジノール配糖体は胡麻種子中に存在する特定構造のリグナン化合物配糖体であることを特徴としている。またその分離方法は破碎された脱脂ゴマ種子から水性抽出液を得た後に少なくとも液体クロマトグラフィーを用いて分画することを特徴としている。更にこれらを用いる脂質の酸化防止方法は上記ピノレジノール配糖体を脂質が共存する水系媒体中へ含有させることを特徴としている。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記の式1で示されるピノレジノール配糖体。

【式1】



【請求項2】 請求項1記載のピノレジノール配糖体を含有する胡麻抽出物。

【請求項3】 請求項1記載のピノレジノール配糖体を分離する方法であって、ゴマ種子を破碎し、脱脂した後、水、水溶性溶媒又はこれらの混合溶媒で抽出して、その抽出液を得、次に該抽出液を少なくとも液体クロマトグラフィーを用いて分画し、該ピノレジノール配糖体含有区分を得ることを特徴とするピノレジノール配糖体の分離方法。

【請求項4】 請求項2記載の胡麻抽出物を分離する方法であって、ゴマ種子を破碎し、脱脂した後、水、水溶性溶媒又はこれらの混合溶媒で抽出して、その抽出液を得ることを特徴とする胡麻抽出物の分離方法。

【請求項5】 請求項1記載のピノレジノール配糖体を水系媒体中に含有させて、該水系媒体と共存する脂質の酸化を防止することを特徴とする脂質の酸化防止方法。

【請求項6】 請求項2記載のゴマ抽出物を水系媒体中に含有させて、該水系媒体と共存する脂質の酸化を防止することを特徴とする脂質の酸化防止方法。

【請求項7】 脂質が生体脂質である請求項5又は6記載の脂質の酸化防止方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は新規のピノレジノール配糖体、これを含有する胡麻抽出物及びこれらの分離方法並びにこれらを用いる脂質の酸化防止方法に関する。食品中の脂質が酸化されると、該食品の風味が損なわれるばかりでなく、その酸化生成物が癌の発生原因になるとの指摘がなされている。また生体構成脂質が酸化されると、癌の発生原因になるとの指摘もなされている。本発明は、かかる脂質の酸化を安全且つ有効に防止できる新規のピノレジノール配糖体、これを含有する胡麻抽出物及びこれらの分離方法並びにこれらを用いる脂質の酸化防止方法に関するものである。

【0002】

2

【従来の技術】 従来、抗酸化剤として、ブチルヒドロキシトルエン (BHT) やブチルヒドロキシアニソール (BHA) 等の合成抗酸化剤が使用されている。ところが、これら従来の合成抗酸化剤にはそれ自体に発癌性の疑いがあるという欠点がある。

【0003】 そこで従来、抗酸化剤として、セサミノール、セサモリノール、ピノレジノール等の天然抗酸化剤が提案されている (特開昭62-581)。これらは、胡麻種子中に含まれるリグナン化合物であり、天然抗酸化剤であるため、相応にして安全であるという利点がある。ところが、これら従来の天然抗酸化剤には、いずれも油溶性 (非水溶性) であるため、その使用に制約が伴うという欠点がある。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明が解決しようとする課題は、従来の合成抗酸化剤にはそれ自体に発癌性の疑いがあり、また従来の油溶性の天然抗酸化剤にはその使用に制約が伴うという点である。

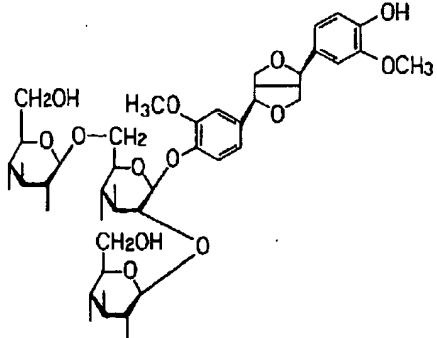
【0005】

【課題を解決するための手段】 しかして本発明者らは、叙上の如き課題を解決する安全且つ有効な水溶性の天然抗酸化剤を得るべく鋭意研究した結果、胡麻種子中に含まれる微量物質の分離を行うことにより、胡麻種子中には新規のピノレジノール配糖体が含まれていて、該ピノレジノール配糖体が安全且つ有効な水溶性の天然抗酸化剤であることを見出した。

【0006】 すなわち本発明は、下記の式1で示されるピノレジノール配糖体、これを含有する胡麻抽出物及びこれらの分離方法並びにこれらを用いる脂質の酸化防止方法に係る。

【0007】

【式1】



【0008】 本発明のピノレジノール配糖体は胡麻種子中に存在する。胡麻種子を各種の方法で抽出及び分画することにより本発明の胡麻抽出物及び本発明のピノレジノール配糖体が得られる。

【0009】 本発明で用いる原料の胡麻種子としては、栽培種であるセサムインディカム (sesamum indicum) の他に、各種の野生種が挙げられる。これらの胡麻

50

種子は、抽出効率からみて破碎されていることが好ましく、また胡麻種子中には約50%の油分が含まれているので、抽出効率からみて油分もなるべく除去されていることが好ましい。したがって本発明では、胡麻種子を破碎し、脱脂した後に、抽出する。このように破碎された脱脂胡麻種子としては、ミルで破碎した後にヘキサンで油分を抽出した脱脂胡麻種子を用いることができるが、通常の食用胡麻油製造工程においてエキスペラーで搾油した後の脱脂胡麻種子も用いることができる。

【0010】上記の破碎された脱脂胡麻種子から本発明の胡麻抽出物及び本発明のピノレジノール配糖体を抽出するために用いる溶媒としては水、水溶性溶媒又はこれらの混合溶媒が挙げられる。かかる水溶性溶媒としてはメタノール、エタノール、n-ブロピルアルコール、イソブロピルアルコール等の低級アルコール類、アセトン、ジメチルアセトアミド、ジメチルホルムアミドが挙げられるが、溶媒としては水、低級アルコール類、及び水と低級アルコール類との混合溶媒が好ましく、なかでも水とエタノールとの混合溶媒が特に好ましい。

【0011】抽出操作は破碎された脱脂胡麻種子の2~7倍重量の溶媒を用いて行なうことが好ましい。2倍以下では溶媒が破碎された脱脂胡麻種子に吸収されて抽出操作が困難であり、逆に7倍以上では抽出効率が悪い。抽出操作は任意の温度で行なうことができるが、目的物質を変質させないようにするため、50°C以下で行なうのが好ましい。好ましい抽出操作として、室温で3~5倍重量の溶媒を用いて8~24時間攪拌し、次いで沪過する方法が挙げられる。

【0012】かくして得られた抽出液を、目的物質を変質させないよう50°C以下で濃縮又は乾燥して本発明のピノレジノール配糖体を0.03~0.3重量%含有する胡麻抽出物が得られる。そしてこの胡麻抽出物を必要に応じ前記した溶媒を適宜選択使用して再抽出し、その抽出液を液体クロマトグラフィー等を用いて分画することにより本発明のピノレジノール配糖体を高濃度に含有する区分が得られ、更に少なくとも液体クロマトグラフィーを用いて分画を繰り返すことにより本発明のピノレジノール配糖体が単体として得られる。

【0013】本発明は液体クロマトグラフィーを用いる分画方法それ自体を特に制限するものではなく、かかる分画方法としては公知の方法が適用できる。例えばその固定相としてはシリカゲル、アルミナ、ODSシリカ、架橋ポリスチレン、イオン交換樹脂等の公知の担体を適宜に選択使用することができ、また展開溶媒としては水、水溶性溶媒又はこれらの混合溶媒を適宜に組み合わせて用いることができる。そして分画操作は、単独の固定相を用いて行なうことができ、又は別種の固定相を用い繰り返して行なうこともできる。

【0014】かくして単離される本発明のピノレジノール配糖体は、詳しくは後述するような分析結果乃至理化

学的性質を有しており、かかる分析結果乃至理化学的性質から、前記の式1で示される化学構造を有するものであることが決定された。

【0015】本発明のピノレジノール配糖体及びこれを含有する胡麻抽出物は水溶性物質であって、水系媒体中に共存する脂質の酸化を防止するのに有効である。

【0016】本発明のピノレジノール配糖体又はこれを含有するゴマ抽出物を適用して酸化防止の対象とする脂質としてはトリグリセライド、リン脂質、糖脂質、ステロール類、リボ蛋白等の生体脂質、動植物油脂、脂肪酸等が挙げられ、これらの他にもカロチノイド、ヘマチン色素等の動植物体色素等も酸化防止の対象として挙げられるが、本発明がこれらのものに限定されるというものではない。

【0017】本発明のピノレジノール配糖体又はこれを含有するゴマ抽出物を用いて上記のような脂質の酸化を防止するには、脂質と水系媒体とが共存する系において、ピノレジノール配糖体又はこれを含有するゴマ抽出物を該水系媒体中へ含有させることによって達成される。

【0018】脂質と水系媒体とが共存する系としては、水系媒体中に油脂類が乳化分散されている系（牛乳、ドレッシング、バニシングクリームや乳液等の化粧品等）、油脂中に水系媒体が乳化分散されている系（マヨネーズ、コールドクリーム等の化粧品、バター、マーガリン、チョコレート等）、水系媒体中にカロチノイドが分散されている系（天然ジュース、トマトケチャップ等）、魚肉、豚肉、牛肉等の脂質と水系媒体とが共存する生食肉組織系、ハム、ソーセージ等の食肉加工品等、更には水と脂質とが共存する各種の生体組織が挙げられる。

【0019】本発明は本発明のピノレジノール配糖体又はこれを含有するゴマ抽出物を前記した水と脂質とが共存する系に含有させる量について特に制限するものではないが、その含有量は通常脂質1g当たり本発明のピノレジノール配糖体として1~200μMである。

【0020】本発明は本発明のピノレジノール配糖体又はこれを含有するゴマ抽出物を前記した水と脂質とが共存する系に含有させる方法について特に制限するものではない。例えば、生体組織を除き、他の対象物に対してはそのまま又はその水溶液を添加することができる。また液体でない対象物に対してはその水溶液を塗布又はその水溶液に浸漬することができる。更に食肉加工品に対してはその原料の混練時に添加することができる。そして生体組織に対しては、通常服用が最も好ましいが、静脈若しくは皮下注射等によってその水溶液を注入することもできる。

【0021】

【実施例】中国産胡麻種子500gをすりつぶしてフランコに採り、ヘキサン1リットルを加えて室温で5時間

搅拌した後、沪過した。この操作を更に2回繰り返し、固体物を室温で通風乾燥して、脱脂胡麻種子230gを得た。この脱脂胡麻種子230gをフラスコに採り、エタノール736g及び水184gを加えて、室温で15時間搅拌した後、沪過して、沪液710gを得た。この沪液を40°C以下の温度で減圧下に80gまで濃縮し、更に凍結乾燥して、胡麻抽出物55gを得た。

【0022】この胡麻抽出物55gを下記の条件で液体クロマトグラフィーを用いて分画した。

固定相：アンバーライトXAD-2（ロームアンドハース社製）

カラム径：55mm

カラム長：370mm

展開溶媒：

1) 水 ; 3000ml

2) 50%メタノール水；3000ml

3) メタノール ; 3000ml

4) アセトン ; 3000ml

ここで50%メタノール水で流出してきた区分を回収した後、40°C以下の温度で減圧下に濃縮し、更に凍結乾燥して、淡褐色固状物4.6gを得た。

【0023】この淡褐色固状物4.6gを下記の条件で液体クロマトグラフィーを用いて更に分画した。

固定相：デベロシルODS-10（野村化学社製）

カラム径：20mm

カラム長：250mm

展開溶媒：メタノール／水=30/70 (v/v)

展開溶媒流量：6ml/分

検出：UV 285nm

ここで保持時間23分で流出する区分を回収した後、40°C以下の温度で減圧下に濃縮し、更に凍結乾燥して、固状物6.6mgを得た。

【0024】この固状物6.6mgを下記の条件で液体クロマトグラフィーを用いて更に分画した。

固定相：デベロシルphenyl-7（野村化学社製）

カラム径：8mm

カラム長：250mm

展開溶媒：メタノール／水=30/70 (v/v)

展開溶媒流量：3ml/分

検出：UV 285nm

ここで保持時間約16分で流出する区分を回収した後、40°C以下の温度で減圧下に濃縮し、更に凍結乾燥して、白色固体26.1mgを得た。

【0025】かくして抽出し、分画して得た白色固体が前記の式1で示される本発明のビノレジノール配糖体であることを、以下の各種分析結果乃至理化学的性質により確認した。

【0026】マススペクトル、紫外線吸収スペクトル、比旋光度、¹HNMR、¹³CNMRの測定結果

マススペクトル [M+1]⁺ : 845

紫外線吸収スペクトル：

λ_{max} : 278, 228

ϵ_{max} : 5790, 15800

旋光度 $[\alpha]_D$: -12.0

¹HNMR δ : 5.2 (J=7.3Hz), 4.7 (J=7.9Hz), 4.3 (J=7.9Hz)

【0027】¹³CNMRによるケミカルシフト

54.3, 54.4, 57.0, 57.3, 60.9, 62.0, 69.5, 70.1, 70.2, 70.9, 72.5, 72.7, 74.4, 76.3, 76.7, 76.9, 77.0, 77.2, 82.1, 86.8, 87.1, 99.6, 103.6, 103.9, 111.8, 112.0, 115.6, 116.8, 120.3, 120.7, 133.8, 136.5, 146.1, 146.2, 148.9, 149.8

【0028】酵素水解

上記で得た白色固体3mgを、PH5.0に調整した水2gに溶解し、 β -グルコシダーゼ3mgを加えて、40°Cで20時間加水分解を行った。ここに酢酸エチル2mlを加えて抽出操作を行い、酢酸エチル溶解性区分と、水溶性区分とに分けた。酢酸エチル溶解性区分をカラムとしてデベロシルODSカラム（野村化学社製、8mmφ×250mm）を用い、また展開溶媒としてメタノール／水=50/50 (v/v) を用いた3ml/分の展開溶媒流量で液体クロマトグラフィーを（検出はUV 285nm）行ったところ、保持時間5.2分にピークが現れ、これはビノレジノールと一致した。水溶性区分はカラムとしてデベロシルNH₂-5カラム（野村化学社製、4.6mmφ×250mm）を用い、また展開溶媒としてアセトニトリル／水=70/30 (v/v) を用いた1ml/分の展開溶媒流量で液体クロマトグラフィーを（検出はRI）行ったところ、保持時間5.2分にピークが検出された。これはグルコースと一致した。

【0029】糖のメチル化

上記で得た白色固体5mgをジメチルスルホキシド0.3mlに溶解し、窒素気流下にメチルスルフィニルカルバニオンを0.3ml添加して3時間反応させ、更に0.3mlのヨウ化メチルを添加して1.5時間反応させてメチル化物を得た。このメチル化物に0.2mlの水を添加し、6規定のトリフルオロ酢酸水溶液を0.4ml加えて95°Cで2時間加水分解を行った。得られた部分メチル化糖に無水酢酸0.3mlとピリジン0.3mlを添加し、37°Cで一晩反応させ、部分メチル化アルジトールアセテートを得た。これを下記の条件でGC-マススペクトルにより分析した。

固定相：DB-1（ジェイアンドダブリュサイエンティフィック社製）

カラム径：0.25mmφ

カラム長：15m

50 キャリアーガス：He

7

キャリアーガス流量: 30ml/分

カラム温度: 180→240°C

カラム昇温速度: 4°C/分

保持時間4分51秒と6分26秒にピークが現れた。保持時間4分51秒のピークからは101(100)、117(71)、129(68)、145(59)、161(77)、205(30)のマスフラグメントが得られ、1, 5-ジ-オ-アセチル-2, 3, 4, 6-テトラ-オ-メチル-D-グルシトールと同定した。また保持時間6分26秒のピークからは129(100)、189(60)のマスフラグメントが得られ、1, 2, 5, 6-テトラ-オ-アセチル-3, 4-ジ-オ-メチル-D-グルシトールと同定した。この結果から(1→2)及び(1→6)で分岐したグルコシド結合が確定した。

【0030】抗酸化活性の評価1

リノール酸の酸化に対する抗酸化効果

50mlの共栓付きフラスコに0.05Mリン酸緩衝液(PH7.0)を10ml、1.3%リノール酸/エタノール溶液を10ml、蒸留水5ml及び本発明のピノレジノール配糖体水溶液(100μM/ml)を0.2ml入れ、40°Cの恒温器中に保存した。本発明のピノレジノール配糖体水溶液0.2mlにかえて水を0.2ml加えた空実験も平行して行った。4日後、上記のサンプルを0.2ml、75%エタノールを9.4ml、30%チオシアノアンモニウム水溶液を0.2ml及び0.02M塩化第一鉄/3.5%塩酸水溶液を0.2ml試験管に採り、よく攪拌した後、3分後に500nmの吸光度を測定した。結果としてリノール酸の過酸化物量は空実験の14%しか生成しておらず、本発明のピノレジノール配糖体に強力な抗酸化効果のあることが示された。

【0031】抗酸化活性の評価2

8

生体膜の酸化に対する防御効果

以下の操作により赤血球膜ゴーストの脂質膜に対するt-ブチルハイドロパーオキサイドによる過酸化脂質生成における防御効果を評価した。ウサギの保存血液100mlに対し、10mMリン酸緩衝液(PH7.4)/152mM塩化ナトリウム水溶液を300ml加え、3500rpmで20分間遠心分離を行い、赤血球以外の組織が含まれる上澄みを除去した。この操作を3回行った。得られた沈殿に10mMリン酸緩衝液(PH7.4)を300ml加え、11500rpmで40分間遠心分離を行った。この操作を6回繰り返して行い、赤血球膜ゴーストを得た。赤血球膜ゴーストの10mMリン酸緩衝液(PH7.4)溶液(1mgプロテイン/ml)を0.9ml、t-ブチルハイドロパーオキサイド水溶液(2.16mg/ml)を0.05ml及び本発明のピノレジノール配糖体水溶液(800μM/ml)を0.1mlクリューキヤップ付き試験管に入れ、37°Cで20分間振とうした後、20%トリクロロ酢酸水溶液1ml及び0.67%チオバルビツール酸水溶液2mlを加えて、100°Cで10分間加熱発色させ、3500rpmで15分間遠心分離を行い、上澄みについて532nmの吸光度を測定した。この発色は過酸化脂質の生成度に依存する。本発明のピノレジノール配糖体水溶液0.1mlにかえて水を0.1ml加えた空実験も平行して行った。結果は空実験に対し32%の発色しか起こらず、本発明のピノレジノール配糖体に強い過酸化脂質生成抑制効果のあることが示された。

【0032】

【発明の効果】既に明らかなように、以上説明した本発明には、安全且つ有効な水溶性の天然抗酸化剤として活用できるという効果がある。